



TITLE:

尿道狭窄ラットにおけるMajor pelvic ganglion(MPG)ニューロンの形態学的変化とその可逆性についての検討

AUTHOR(S):

河原, 優; 秋野, 裕信; 岡田, 謙一郎

CITATION:

河原, 優 ...[et al]. 尿道狭窄ラットにおけるMajor pelvic ganglion(MPG)ニューロンの形態学的変化とその可逆性についての検討. 泌尿器科紀要 1995, 41(1): 1-7

ISSUE DATE:

1995-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/115437>

RIGHT:

尿道狭窄ラットにおける Major pelvic ganglion (MPG) ニューロンの形態学的変化とその可逆性についての検討

福井医科大学泌尿器科学教室 (主任: 岡田謙一郎教授)

河原 優, 秋野 裕信, 岡田謙一郎

MORPHOLOGICAL CHANGE AND REVERSIBILITY OF MAJOR PELVIC GANGLION NEURONS USING RAT MODEL OF PARTIAL URETHRAL LIGATION

Masaru Gobara, Hironobu Akino and Kenichiro Okada

From the Department of Urology, Fukui Medical School

We made partial urethral ligation in female Wistar rats to evaluate the morphological change and the reversibility of the major pelvic ganglion (MPG) neurons before and after partial urethral ligation.

Thirty rats were divided into 4 groups; normal control group (N=3), ligation group (N=9), release of ligation group (N=9), and sham-operated group (N=9). WGA-HRP (horseradish peroxidase with lectin wheat germ agglutinin) was injected into the right side of the bladder 4 days before the MPG neurons were removed. MPG was examined by the axonal tracer method.

Rats with partial urethral ligation for 1 week exhibited a significant increase in the size ($419.1 \pm 146.0 \mu\text{m}^2$) of the mean area of MPG neurons as compared to the normal controls ($318.0 \pm 118.6 \mu\text{m}^2$), but they showed a steady decrease in size ($304.2 \pm 118.6 \mu\text{m}^2$) similar to that in the sham-operated group ($310.2 \pm 116.3 \mu\text{m}^2$) 3 weeks after the removal of the ligation. The rats with partial urethral ligation for 7 weeks and 11 weeks also exhibited a significant increase in the mean area (7w; $484.1 \pm 192.6 \mu\text{m}^2$, 11w; $549.4 \pm 181.3 \mu\text{m}^2$), but they did not show complete recovery (7w; $383.3 \pm 159.6 \mu\text{m}^2$, 11w; $549.6 \pm 279.5 \mu\text{m}^2$) as compared to the sham-operated group (7w; $324.4 \pm 124.9 \mu\text{m}^2$, 11w; $345.9 \pm 121.7 \mu\text{m}^2$) after removal of ligation. Only the 1-week ligation group showed recovery in neuronal size.

These findings imply that the neuronal hypertrophy might become irreversible when the period of partial urethral ligation persisted beyond 7 weeks.

(Acta Urol. Jpn. 41: 1-7, 1995)

Key words: MPG (major pelvic ganglion), Partial urethral ligation, Rat, Neuronal hypertrophy

結 言

下部尿路通過障害が一定期間以上継続した場合、膀胱およびその支配神経系に2次的な変化が生じ、膀胱利尿筋の変性、不安定収縮ひいては頻尿、失禁、残尿の発生などの排尿障害をきたすことが臨床的にも実験的にも証明されている¹⁻⁴⁾。しかし前立腺肥大症に代表される下部尿路通過障害が手術により除去されても排尿困難や膀胱の不安定収縮が残存する症例が約25%⁵⁾~60%⁶⁾近く存在し、これらの症例に対する対応、基礎的な解析が今日要求されている。すなわち下部尿

路通過障害により膀胱、神経系が変化する機序およびそれらが不可逆性となりえるのか否かの検討、そして不可逆性となるのであればその原因と時期の解明である。今回われわれは膀胱平滑筋を支配する末梢神経系の変化に注目しラットの骨盤神経叢である major pelvic ganglion (以下 MPG) ニューロンの経時的な形態学的変化およびその可逆性の有無について検討したので報告する。

方 法

雌 Wistar 系ラット12週齢を対象に下部尿路狭窄モ

デルを作製した (Fig. 1). これらをコントロール群 (N=3), 狭窄群 (N=9), 狭窄解除群 (N=9), sham 手術群 (N=9), の4群に分けた. 狭窄群は一定期間 (1週間 (n=3), 7週間 (n=3), 11週間 (n=3)) の狭窄後に MPG, 膀胱を摘出し, 狭窄解除群は前記期間後, 狭窄を解除, さらに3週間経過後に検体を摘出している. sham 手術群は狭窄解除群の対照としてそれぞれの期間に設定した. なお下部尿路通過障害のモデルとして雌ラットを用いた理由は, 精囊による尿道の延長, 圧排の問題がないこと, 雄よりもニューロン数が少なく検討がより正確で容易であること, 過去の豊富なデータの蓄積があることなどによる^{2,5,6)}.

詳細を以下に述べる.

I. 手術

麻酔は腹腔内に 27 G 針を用いて pentobarbital sodium (Dainabot) を 50 mg/kg 注入後, 下腹部正中切開により膀胱および近位尿道を露出した. 尿道狭窄は Uvelius⁷⁾, Steers⁸⁻¹⁰⁾ らの方法に準じ尿道の外径が 1 mm となるように 3 Fr. の硬質カテーテルを尿道前面に配置し 3-0 ナイロン糸で結紮した後, カテーテルを除去することにより作製した. 狭窄の解除は眼科用クーパーを用いてナイロン糸を切離, 除去して行った. 狭窄が解除され, 2.4 mm の正常の尿道内腔¹¹⁾が確保されたことの確認のため, 尿道に 8 Fr. 硬質カテーテルが挿入可能であることを確かめている. sham 手術群では膀胱および近位尿道を剝離するにとどめ, 狭窄は作製しなかった. 術後の感染予防としてミノサイクリン塩酸塩含有水 (250 mg/l) 実験終了時まで飲料水として投与した.

II. axonal tracer の注入

尿道狭窄作製後もしくは sham 手術後1週間, 7週間, 11週間に前記麻酔下で膀胱を露出し, Mesulam¹²⁾ らの方法に準じて WGA-HRP (horseradish peroxidase with lectin wheat germ agglutinin) を axonal tracer として 30 G, 50 μ l の Hamilton syringe を用いて 100 μ l を膀胱右壁内全体に注入した.

III. 標本の採取, MPG ニューロンの染色

Axonal tracer 注入後4日から7日の間に上記麻酔下に体重を測定し MPG および膀胱を摘出した. MPG は10%ホルマリンで4時間固定し, 膀胱は内部の尿を十分排出した後の重量を測定した. ホルマリン固定後の MPG は Mesulam¹²⁾ らの方法に準じて 0.1 M, pH 7.4 の PBS に24時間, また cryoprotection として10% sucrose 加 PBS に24時間安置後凍結した. その後 14 μ m の凍結切片を作製し TMB (tetramethyl-benzidine) 染色により MPG ニューロンに取り込まれた WGA-HRP を発色させた (Fig. 2).

IV. ニューロンの解析

オリンパス社製カラー自動画像解析装置を用い, ニューロン数, 平均面積 (以下 mean area) の測定を行った (Fig. 3). Kanerva¹³⁾, Papka¹⁴⁾ らの報告に従い, 同一のニューロンを重複して測定すること为了避免するため3切片ごとに鏡検し, 不完全な形のニューロンの除去目的で mean area が 150 μ m² 以下のものは計測から除外した.

なお狭窄解除群は尿道前面に配置した 3-0 ナイロン糸の結紮を1, 7, 11週後に除去後さらに3週間経過

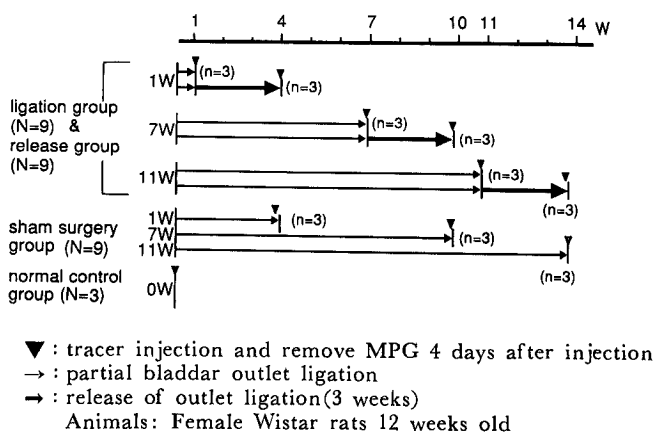


Fig. 1. A partial urethral ligation was made in 30 female Wistar rats divided into 4 groups to evaluate the morphological change and reversibility of MPG neurons.

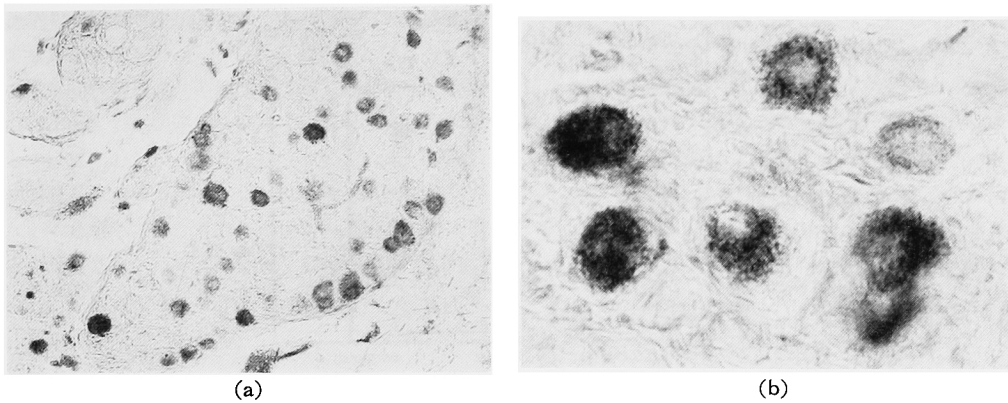


Fig. 2. The axonal tracer method was employed to examine the morphological change of the MPG neurons. The neurons of a rat show various cell sizes. (a): $\times 100$, (b): $\times 400$

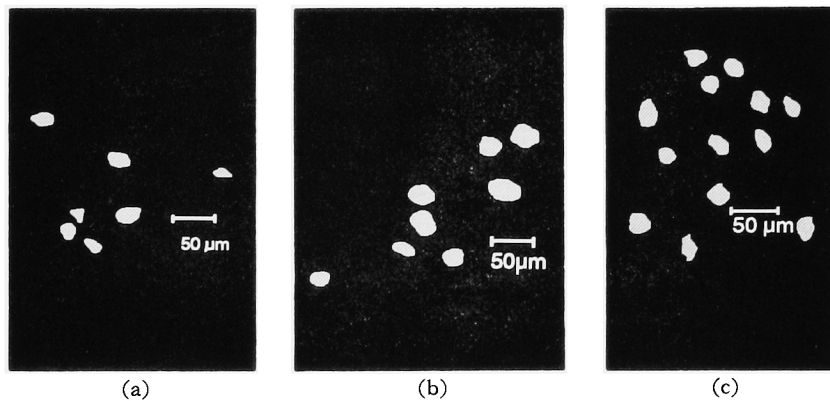


Fig. 3. Photomicrographs of WGA-HRP labeled bladder neurons in MPG from rats. (a): Control, (b): Urethral ligation (7 weeks), (c): Release of ligation Scale bar=50 μm

させた後に WGA-HRP を注入し狭窄群と同様な処置を行い MPG, 膀胱を摘出している。

MPG ニューロンの平均面積 (mean area) の変化における統計学的有意差の検定には, 各ラットより算出した値の平均値をもとに一群 3 匹間の平均値を出し, その値で各群間の t 検定を用いて行った。本文中の数値は平均値 \pm 標準偏差で表示した。

結 果

12週齢コントロール群における MPG ニューロンの mean area (総ニューロン数: n), 膀胱重量, 体重はそれぞれ $318.0 \pm 118.6 \mu\text{m}^2$ (n=611), 105 mg, 200 g であった。狭窄群における各狭窄期間別の結果と同時にを行った sham 手術群との比較は以下のとおりであった。

I. 1週間狭窄群 (Fig. 4)

狭窄作製 1週間後に mean area は $419.1 \pm 146.0 \mu\text{m}^2$ (n=543) と有意に増大し ($p < 0.01$), 膀胱重量

も 225.7 mg と約 2 倍に増加していた。しかし体重は 191.7 g でほとんど変わらなかった。狭窄解除 3週間後で mean area は $304.2 \pm 118.6 \mu\text{m}^2$ (n=622) となり, これは sham 手術群の $310.2 \pm 116.3 \mu\text{m}^2$ (n=643) との間に有意差を認めず, 平均膀胱重量も 1週間解除群 128.3 mg, sham 手術群 100.5 mg でほぼ正常に復していた。したがってニューロンの mean area, 平均膀胱重量は狭窄解除によりほぼ正常に復することが示された。平均体重はそれぞれ 206.7g, 210g で差を認めなかった。

II. 7週間狭窄群 (Fig. 5)

狭窄作製 7週間後に mean area は $484.1 \pm 192.6 \mu\text{m}^2$ (n=727) と有意に増大し ($p < 0.01$) 膀胱重量は 255.7 mg で約 2.5 倍に増加していた。体重は 201.7 g で 1週間狭窄群と同様にほとんど変わらなかった。狭窄解除 3週間後で mean area は $383.3 \pm 159.6 \mu\text{m}^2$ (n=675) となり, sham 手術群の $324.4 \pm 124.9 \mu\text{m}^2$ (n=706) との間に有意差を認め ($p < 0.01$), 狭窄群

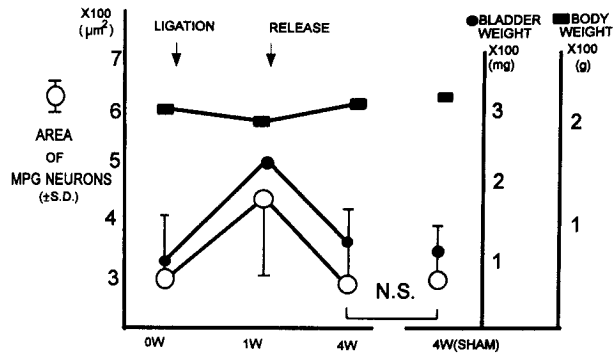


Fig. 4. Time courses of mean area of MPG neuron, bladder weight and body weight are shown. Release of urethral ligation was done at 1 week after ligation.

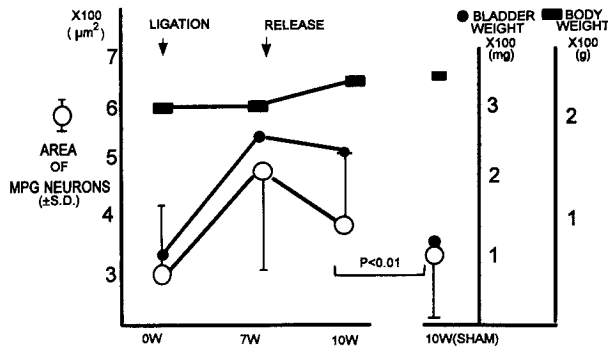


Fig. 5. Time courses of mean area of MPG neuron, bladder weight and body weight are shown. Release of urethral ligation was done at 7 weeks after ligation.

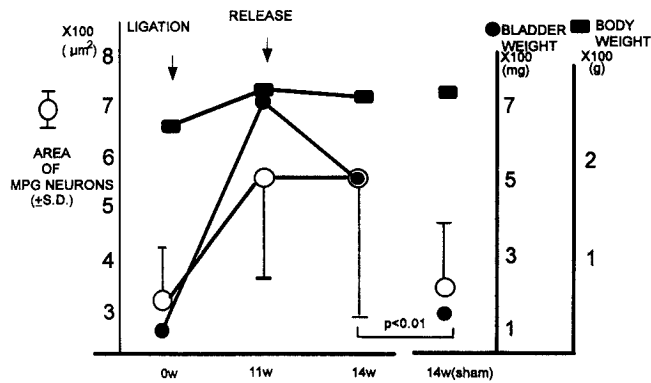


Fig. 6. Time courses of mean area of MPG neuron, bladder weight and body weight are shown. Release of urethral ligation was done at 11 weeks after ligation.

と比較して縮小する傾向を示すものの狭窄の解除によってもニューロンの mean area は正常に復さなかった。平均膀胱重量は7週解除群 223.4 mg, sham 手術群 114.7 mg で, 7週解除群はほぼ2倍の重量増加を示していた。したがってニューロンの mean area, 平均膀胱重量は狭窄解除によっても正常に復する傾向がないことが示され, これらの変化が不可逆的であることが示唆された。平均体重は7週解除群 222.3 g, sham 手術群 228.3 g で差を認めなかった。

Ⅲ. 11週間狭窄群 (Fig. 6)

狭窄作製11週間後に mean area は $549.4 \pm 181.3 \mu\text{m}^2$ ($n=605$) と3群の中では最も増大しており ($p < 0.01$), 膀胱重量も 703.0 mg と約7倍にまで増加していた。体重は 235.0 g で1週間および7週間狭窄群と異なり増加していた。狭窄解除3週間でも mean area は $549.6 \pm 279.5 \mu\text{m}^2$ ($n=598$) であり, 縮小傾向を認めなかった (sham 手術群の $345.9 \pm 121.7 \mu\text{m}^2$ ($n=691$)). 平均膀胱重量は11週解除群 483.5 mg, sham 手術群 155.3 mg で, 11週解除群はほぼ3倍の重量増加を示していたが, 狭窄群と比較すると有意に減少傾向を示していた。しかし正常化は認められなかった。したがってニューロンの mean area, 平均膀胱重量は狭窄解除によっても正常に復する傾向がないことが示唆された。平均体重はそれぞれ 221.7 g, 228.3 g で差を認めなかった。

以上から MPG ニューロンの mean area, 平均膀胱重量は狭窄期間が1週間でほぼ正常に復するが, 狭窄期間が7週間以上におよぶと3週間の解除期間では正常に復さないことが示された。

考 察

前立腺肥大症に代表される下部尿路通過障害に起因する頻尿, 失禁などが, 手術で通過障害が除去されても残存する症例が問題となっている。臨床的にこれらの一部は高齢化にともなう膀胱平滑筋自体の感受性の変化や, subclinical な神経因性膀胱の原因となる, 明らかな精神, 運動障害を示さない多発性脳梗塞症合併例の増加などで説明されつつある¹⁵⁻¹⁷⁾。しかし高齢者の場合, 排泄蓄尿障害を病気として自覚し外来を受診するまでには少なくとも数カ月間を要するのが一般的であり¹⁸⁾, その時点で初発症状の発現からかなりの期間を経過しているのが通例と推察される。したがって下部尿路通過障害の持続により膀胱利尿筋の変性や骨盤神経系に変化が生じている可能性も高く^{1-3, 5)}, これらの変化がすでに不可逆的となったかあるいは可逆的としても回復に時間を要するため, 術後の排尿状態

の改善度が低くなる可能性があると考えられる。下部尿路抵抗の強さによっても異なるであろうが, 膀胱および骨盤神経系に不可逆的な変化をもたらす通過障害の持続の臨界期がどの程度であるかを明らかにすることは臨床的に重要なことである。そこでわれわれはラットの下部尿路狭窄モデルを作製しさまざまな狭窄期間で MPG ニューロンの mean area, 膀胱重量, 体重について検索し, これらが狭窄解除後どの様に変化するのか経時的に観察し, どの程度で変化が不可逆的になるのかについて検討した。このように狭窄期間を同一モデルでさまざまに設定して体系的に検討した報告はない。

MPG ニューロンは, 同種間の動物でも多彩な像を呈する複雑な小神経節集合体としての骨盤神経叢が, ラットでは一つの大神経節として同定されているためそのように呼ばれており, その相対的単純さから骨盤神経反射の機構の研究などに利用されている¹⁹⁾。われわれはこの神経節中の膀胱支配ニューロンに注目し, さまざまな知見をえた。われわれの検討では MPG ニューロンの mean area は尿道狭窄作製後1週間めから拡大し, その程度は7週, 11週と経時的に強まり, また狭窄解除後3週間で狭窄期間が1週間の場合は可逆的に正常にまで回復するが7週間, 11週間では正常化せずに不可逆的な変化がおこっていることが示された。同様なことは膀胱重量に関しても認められ, 2~6週間の間に MPG ニューロン, 膀胱壁が不可逆的な変化を受けると考えられた。これらの結果の一部は MPG ニューロンに関する Steers ら¹⁰⁾の報告, 6週間狭窄後膀胱壁の筋線維肥大は狭窄解除後も正常に復さなかったとする Linder¹¹⁾ らの検討と一致する所見であった。狭窄解除期間を6~8週間以上に延長して検討した報告も認められ, Gabella ら⁶⁾は, 尿道狭窄期間を8週間, 狭窄解除期間を6週間に設定するとニューロンの肥大が正常化したとし, Steers²⁰⁾らは尿道狭窄期間6週間, 狭窄解除期間6週間では正常化を認めなかったとしている。いずれも興味深い結果であるが, 両者にはニューロンの同定, 測定方法が明らかに異なっており, また尿道狭窄作製時の糸を縛る強さ, 硬質 rod の置き方 (尿道内か尿道外か) などが結果に関係してくるため比較は難しい。今回のわれわれの検討は狭窄解除期間が3週間であったが, 現在より長期間 (6週間) の狭窄解除期間を設定し検討中である。しかし今のところ7週間以上の狭窄モデルでは狭窄解除後もニューロンの正常化を認めていない。いずれにしても狭窄期間が6~8週間前後におよぶと条件にもよるが, ニューロンに不可逆的な形態学的変化が起こりう

らと思われる。また今回、尿道狭窄解除後の膀胱重量の変化と MPGニューロンの mean area の変化が必ずしも同調しなかったが、これは膀胱平滑筋が縮小しても神経系に影響を与え続ける変化、たとえば collagen fiber, elastic fiber などが神経細胞の肥大維持に関与している可能性が考えられた。

下部尿路閉塞がある程度持続すると膀胱の伸張反射に変化が生じ、C線維を中心とする仙髄レベルの脊髄反射が生じるといわれ、これと節後線維の神経肥大との関係が注目されている²¹⁾。この神経の肥大化は尿路系にかぎったものではなく、たとえば小腸筋層の肥大化にともなう腸筋神経叢の神経細胞肥大のように消化管系にも認められるという²²⁾。肥大のメカニズムはまだ解明されていないが、Steersら¹⁰⁾は中枢神経系や非特異的炎症性物質、循環ホルモン、細胞変性、壊死の関与よりは標的臓器の増大に伴う物質合成の増加に伴った変化、または局所における NGF, fibroblast growth factor などの産生増加が関与しているとしている。肥大化が過伸張による神経細胞の変性脱落、壊死による細胞数の減少に伴う代償性肥大の可能性²³⁾もあるが、早期の変性神経細胞は新たに再生されるとする報告もある²⁴⁾。Gabella⁶⁾らは尿道狭窄によるニューロンの変化(体積)と平滑筋内の choline acetyltransferase activity についての検討で支配神経の肥大化は膀胱の過伸張が原因の一つであり、膀胱平滑筋内の神経線維、軸索の増生と深い関係があるとしている。Arner²⁵⁾らは利尿筋の肥大化は栄養血管からの距離の増加や相対的な神経密度の減少を生じるとし、Kato¹⁾らは膀胱の過伸張による虚血状態が狭窄に伴って必要とされる ATP や creatine phosphokinase の供給を減少させるとしている。そのため肥大した筋線維は悪条件下にあるが、Arner²⁵⁾らはこれらの筋線維内では何等かの代償的な機構が生じることを類推している。したがって筋線維間に増加した線維成分が間接的に標的臓器内の代謝の変化を助長することによって筋線維内の代償機構の発生およびそれに伴う支配神経の肥大化を生ずる可能性も考えられる。

NGFをはじめとする local trophic factor は神経細胞の生存、分化、増殖に強く関与しているとされ^{26, 27)}、Steers ら²⁰⁾は下部尿路狭窄に伴う局所の NGF 量の検討で、正常の 4~6 倍の NGF を検出したと報告し、しかも神経細胞の肥大化の前に Peak をみかえたとしている。しかし NGF のみがすべての神経細胞の生存、成長を促進するとはかぎらず¹⁰⁾、それ以外の growth factor についても検討が必要と思われる。

今後われわれは膀胱および神経の変性が可逆の状態

であると思われる 2 週間から 6 週間の比較的短期の狭窄モデルについても検討してゆくとともに、11週間狭窄群で必ずしも同調傾向を認めなかった MPGニューロンと膀胱重量の動きについての再検討を行う予定である。さらに狭窄解除期間をより延長させたモデル(6週間)による検討や不可逆性獲得の原因についての探究も進めてゆきたいと考えている。

結 語

- 1) 下部尿路通過障害による末梢神経系の変化を明らかにする目的でラットの尿道狭窄モデルを作製し、MPGニューロンの形態学的変化を観察し、同時に膀胱重量、体重を測定した。
- 2) mean area は 1 週間狭窄群では狭窄解除後正常化した。狭窄が 7 週間以上におよぶと期間の長さとともに増大し、解除後も正常化しなかった。
- 3) 膀胱重量は 1 週間狭窄群は解除後ほぼ正常化した。7 週間狭窄群、11 週間狭窄群は解除後も正常化しなかった。
- 4) 尿道狭窄ラットの MPGニューロンの肥大化、膀胱重量の変化は 7 週間以上の狭窄で不可逆になる可能性が示唆された。
- 5) MPGニューロンの肥大化のメカニズム解明のためには膀胱筋線維間の線維成分、local trophic factor や神経細胞内代謝等についても検討が必要であると考えられた。

なお、この研究は文部省科学研究費奨励研究 A (課題番号 05771179) により行われた。

文 献

- 1) Kato K, Wein AJ, Radzinski C, et al.: Short term functional effects of bladder outlet obstruction in the cat. *J Urol* 143: 1020-1025, 1990
- 2) Mattison A, Ekstrom J, Larsson B, et al.: Change in the nervous control of the rat urinary bladder induced by outflow obstruction. *Neurology Urodynamics* 6: 37-45, 1987
- 3) Levin RM and Wein AJ: Experimental models of urinary bladder outlet obstruction. *Neurology Urodynamics* 5: 241-246, 1986
- 4) Abrams P: Detrusor instability and bladder outlet obstruction. *Neuro Urology Urodynamics* 4: 317-328, 1985
- 5) Malmgren A, Uvelius B, Anderson KE, et al.: On the reversibility of functional bladder changes induced by infravesical outflow obstruction in the rat. *J Urol* 143: 1026-1031, 1990

- 6) Gbella G, Berggren T and Uvelius B: Hypertrophy and reversal of hypertrophy in rat pelvic ganglion neurons. *J Neurocytol* 21: 649-662, 1992
- 7) Uvelius B and Mattiasson A: Collagen content in the rat urinary bladder subjected to infravesical obstruction. *J Urol* 132: 587-590, 1984
- 8) Steers WD and de Groat WC: Effects of bladder outlet obstruction on micturition reflex pathways in the rat. *J Urol* 14: 60, 1988
- 9) Steers WD, Erdman S and Ciambotti J: Neural plasticity in afferent and efferent pathways to the urinary bladder of the rat following urethral obstruction in the rat. *Abstr Soc Neurosci* 14: 606, 1988
- 10) Steers WD, Ciambotti J, Erdman S, et al.: Morphological plasticity in efferent pathways to the urinary bladder of the rat following urethral obstruction. *J Neurosci* 10: 1943-1951, 1990
- 11) Linder P, Mattiasson A, Persson L, et al.: Reversibility of detrusor hypertrophy and hyperplasia after removal of infravesical outflow obstruction in the rat. *J Urol* 140: 642-646, 1988
- 12) Mesulam MM, Hegarty E, Barbas H, et al.: Additional factors influencing sensitivity in the tetramethyl benzidine method for horseradish peroxidase neurohistochemistry. *J Histochem Cytochem* 28: 1255-1259, 1980
- 13) Kanerva L and Teravainen H: Electron microscopy of the paracervical (Frankenhauser) ganglion of the adult rat. *Z Zellforsch* 129: 161-177, 1972
- 14) Papca RE, Tauring HH and Klenn P: Paracervical ganglia of the female rat: histochemistry and immunochemistry of neurons, SIF cells and nerve terminals. *Am J Anat* 179: 243-257, 1987
- 15) Kitada S, Ikei Y, Hasui Y, et al.: Bladder function in elderly men with subclinical brain magnetic resonance imaging lesions. *J Urol* 147: 1507-1509, 1992
- 16) 安田耕作: 前立腺肥大症の手術をしてもなぜ自覚症状の改善をみないのか. *医のあゆみ* 155: 462, 1990
- 17) 北田真一郎, 山口孝則, 西 昇平, はか: 多発性脳梗塞における排尿筋無抑制収縮の検討. *脊椎脊髄ジャーナル* 4: 19-22, 1991
- 18) 安田耕作: 前立腺肥大症の診断と治療の選択 病気のとらえかたと治療法
- 19) Keast JR, Booth AM and de Groat WC: Distribution of neurons in the major pelvic ganglion of the rat which supply the bladder, colon or penis. *Cell Tissue Res* 256: 105-112, 1989
- 20) Steers WD, Kolbeck S, Creedon D, et al.: Nerve growth factor in the urinary bladder of the adult regulates neuronal form and function. *J Clin Invest* 88: 1709-1715, 1991
- 21) 阿曾佳郎, 島崎 淳, 白岩康夫: 前立腺肥大症に伴う排尿障害の新しい治療をめぐって. *メディカルジャーナル社刊* 1991
- 22) Gabella G: Size of neurons and glial cells in the intramural ganglia of the hypertrophic intestine of the guinea pig. *J Neurocytol* 13: 73-84, 1984
- 23) Gosling JA, Gilpin SA, Gilpin JS, et al.: Decrease in the autonomic innervation of human detrusor muscle in outflow obstruction. *J Urol* 136: 501-504, 1986
- 24) Elbadawi A, Meyers S, Malkowitz B, et al.: Effect of short time partial bladder outlet obstruction on rabbit detrusor an ultrastructural study. *Neuronal Urodynam* 8: 89-116, 1989
- 25) Arner A, Malmqvist U and Uvelius B: Metabolism and force in hypertrophic smooth muscle from rat urinary bladder. *Am Physiol Soc* c923-c932, 1990
- 26) Thoenen H and Edgar D: Growth factors. *Science* 292: 238-242, 1985
- 27) Lander AD: Molecules that make axons grow. *Mol Neurobiol* 1: 231-245, 1987

(Received on December 24, 1993)
(Accepted on June 20, 1994)